

Artigo Original

recebido em 25/04/2001 e aceito em 21/08/2001

Malhas de polipropileno recobertas com colágeno polianiónico ou como dupla camada com poli(cloreto de vinila) para a reconstrução da parede abdominal

Polypropylene mesh coated with polyanionic collagen or as a double layer with poly(vinyl chloride) for the reconstruction of the abdominal wall

Gilberto Goissis

Depto. Quím. Fís. Molec., Inst. Quím. São Carlos (IQSC)
Universidade de São Paulo (USP)
Av. Trabalhador São-carlense 400,
São Carlos, São Paulo, Brasil. CP 780 - CEP 13560-970
Fax: (55-16) 273-9985; Tel: 55-16- 273-9986
e-mail: ggoissis@iqsc.sc.usp.br

Sueli Suzigan

Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto
Av. Brigadeiro faria Lima 5416
São José do Rio Preto, SP, Brasil 15.090-000
Fone (55-021-17)-227-5733, Fax: (55-021-17)-227-1277

Diderot R. Parreira

Depto. Quím. Fís. Molec., Inst. Quím. São Carlos (IQSC)
Universidade de São Paulo (USP)

Selma R.O. Raymundo

Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

Helder Chaves

Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

Kassin M.K. Hussain

Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

Resumo

Malhas poliméricas são, atualmente, os materiais mais indicados para a reconstrução da parede abdominal, com destaque para as malhas de polipropileno. Os objetivos deste trabalho foram desenvolver, caracterizar e avaliar o comportamento biológico de malhas de polipropileno recobertas com colágeno polianiónico ou na forma de dupla camada com poli(cloreto de vinila), como biomateriais para a reconstrução da parede abdominal. Os materiais foram caracterizados por eletroforese em gel de poliacrilamida-SDS, espectroscopia no infravermelho, calorimetria diferencial de varredura, microscopia eletrônica de varredura e por implantes na parede abdominal de carneiros por períodos entre 1 e 18 semanas. A malha de polipropileno, na forma de dupla camada com poli(cloreto de vinila), mostrou-se mais biocompatível e menos susceptível à adesão das alças intestinais, sugerindo seu potencial para uso na reconstrução da parede abdominal. Os resultados mostraram também que o poli(cloreto de vinila) isoladamente e, principalmente, pela ausência de adesão após 9 semanas, pode constituir-se em um biomaterial para uso temporário e de baixo custo. Embora a neoformação óssea observada com os implantes de polipropileno : colágeno polianiónico não recomende o seu uso como o proposto inicialmente neste trabalho, este fato constitui-se em uma indicação de uma ação ósteo-indutora do colágeno utilizado, uma propriedade importante para materiais dirigidos à reconstrução de tecido ósseo.

Palavras-chaves: Biomateriais, Polipropileno, poli(cloreto de vinila), colágeno polianiónico, Parede abdominal, Reconstrução.

Abstract

Polymeric mesh are the most recommended materials for the reconstruction of the abdominal wall, with particular emphasis for polypropylene mesh. This work describes the preparation, characterization, and the biocompatibility studies on polypropylene mesh coated with polyanionic collagen or in the form of a double layer with poly(vinyl chloride), intended as a biomaterial for the reconstruction of the abdominal wall. Materials were characterized by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis, infrared spectroscopy, differential scanning calorimetry, electron scanning microscopy, and by implantation in the abdominal wall of sheep for periods from 1 to 18 weeks. The results showed that the double layer of polypropylene : poly(vinyl chloride) was the most biocompatible, and the list susceptible with respect to bowel adhesion, suggesting its potential use as a temporary or permanent biomaterial for abdominal wall reconstruction. For the same reasons, poly(vinyl chloride) may constitute in an efficient and low cost biomaterial for short term abdominal wall repair, particularly due to the lack of bowel adhesion after 9 weeks of implantation. In the case of polypropylene mesh coated with polyanionic collagen, although the formation of bone tissue around the implant does not recommend its use for the purpose intended in this work, the results suggest that polyanionic collagen may be an osseo-inducing biomaterial, a very useful property for biomaterials intended for the reconstruction of bone tissue.

Keywords: Polypropylene, poly(vinyl chloride), polyanionic collagen, biomaterial, abdominal wall, reconstruction.

Extended Abstract

Introduction

Polypropylene (PLP) mesh is the material of choice for the reconstruction of abdominal wall by means of mechanical reinforcement (sublay technique) or by the induction of a scar tissue around the polymeric mesh. Major causes for failures include the use of inappropriate surgical techniques, changes in the mechanical properties of implanted material during, or after implantation, and poor tissue response. Post surgical problems are seromes, (30-50%), indisposition, (10-20%), restriction of the mobility of the abdominal wall (25%) associated with bowel adhesion to the surface of the implant. Ideally the implant should incorporate to the adjacent tissue during remodeling as a result of a mild inflammatory process.

Aims

To develop, characterize, and to study the biological response of PLP mesh modified by coating with polyanionic collagen (PAC), or as a double layer with poly(vinyl chloride) (PVC), intended as biomaterials for short or long term repair of the abdominal wall.

Experimental

Coating of medical grade PLP with PAC was performed with a 1% (w/w) gel derived from bovine tendon, followed by vacuum drying. Material characterization: PAGE-SDS gel electrophoresis, IR spectroscopy, DSC, and SEM; Biological evaluation: After sterilization in ethylene oxide, the implants were introduced in the abdominal wall of male sheeps, with re-operations after 1, 9, and 18 weeks. Parameters evaluated were bowel adhesion and tissue response by light microscopy after H.E, G.T, and Von Kossa staining.

Results and Discussion

PAGE-SDS gel electrophoresis, IR spectroscopy, and DSC showed that PAC was type I collagen with preserved triple helix structure. Thermal transitions in PLP:PAC were observed at 171.7 °C (PLP melt) and 50.8 °C (PAC denaturation). In PLP:PVC double layers thermal transitions were observed at 67.1 °C (PVC vitreous transition), 168.2 °C (PLP melt), and 236.6 and 265.4 °C (PVC decomposition). Macroscopic observation of implanted materials showed complete absence of suture dehiscence

and infection, with serome detected in only one animal (PLP after 9 weeks). Bowel adhesion were classified as follows: a - PLP, minimal after 1 and 9 (level 1), increasing to moderate to intense after 18 weeks (level 2); b - PLP:PVC, no adherence after 1 and 9 weeks (level 0), and minimal after 18 weeks (level 1); c - PLP:PAC, no adhesion after 1 and 9 weeks (level 0), and minimal after 18 weeks (level 1). Table 1 describes the histological characteristics of the tissue response for PLP and PLP:PAC only, since those for PLP:PVC were similar to PLP. Independently from the implantation period, peri-implant fibrosis in PLP was moderate to intense (3+/5 \Rightarrow 4+/5), with a cellular pattern of a foreign body type of reaction (Figure 4a). In PLP:PAC, although peri-implant fibrosis were more intense within the first week (4+/5), it decreased significantly (1+/5) with increasing implantation period, suggesting a higher biocompatibility in comparison to PLP. Nevertheless, primary ossification was detected adjacent to all PLP:PAC implants (Figure 4b).

Conclusions

(i) Although PLP:PVC implant showed similar inflammatory processes, the former was less susceptible to bowel adhesion and; (ii) for the same reason PVC alone, in spite of its lower mechanical properties compared to PLP, poses as a low costs short term implant for abdominal wall repair, particularly in pediatric surgery; (iii) although PLP:PAC implants were characterized by low bowel adhesion, and higher biocompatibility in comparison to PLP:PVC and PLP, bone formation observed around the implant does not recommend its use as a biomaterial for the repair of the abdominal wall; (iv) on the other hand the observed ossification suggests that polyanionic collagen may be an osseointegrating biomaterial, a very useful property for biomaterials intended for the reconstruction of bone tissue.

Acknowledgements

To Prof. J.V. de Paiva Neto, A.E. Biazin, G.D Broch and D.Z Netto for the technical assistance and to FAPESP for the financial support (Proc. 97/04558). S.R.O. Raymundo K.M.K Hussain, and H. Chaves are post-grad. student at FAMERP. D.R Parreira was a graduate fellowship from FAPESP, and presently a post-graduation student at Inter-Institutional post-graduation program in Bioengineering, USP, São Carlos.

Introdução

O uso de malhas poliméricas nas cirurgias de reparo de hérnias tem sido, atualmente, a técnica mais indicada, principalmente nas reincidências de grande extensão. Os índices de reincidência, de modo geral, não ultrapassam 10% (Shulman et al., 1992). As complicações menores mais comuns que resultam do uso das malhas poliméricas incluem os seromas, em 30-50% dos casos (Amid et al., 1994), mal-estar, em 10-20% dos casos (Langer et al., 1996) e a restrição da mobilidade da parede abdominal em 25% de todos os casos (Schumpelick et al., 1996). Maiores complicações estão relacionadas, principalmente, com a adesão das alças intestinais na superfície do implante. O mecanismo de reparo destas malhas poliméricas ocorre por simples fechamento mecânico (sublay technique), ou então pela indução da formação de um tecido cicatricial ao redor da malha (Bellon et al., 1995). Os motivos das falhas destes tipos de implantes, de modo geral, são devidos à: persistência de um processo inflamatório constantemente ativo (Bellon et al., 1995), associado à formação de tecido cicatricial irregular ou de baixa intensidade que não permite a integração adequada da malha junto à área do tecido de regeneração (Bellon et al., 1997); alterações nas propriedades biomecânicas do implante (Klinge et al., 1996); ou então, técnica cirúrgica imprópria quando da colocação do implante (Lichtenstein et al., 1993). Dentre os biomateriais mais utilizados no reparo de lesões da cavidade abdominal está o polipropileno, comercializado com os nomes de Marlex®, Prolene® e Trelex® (Amid et al., 1995). Entretanto, alguns aspectos importantes, do ponto de vista patofisiológico e morfológico, ainda são questionados, quanto à eficiência destas malhas como substitutos artificiais da parede abdominal. O implante ideal deveria em primeira instância, ser fortemente incorporado ao tecido durante o processo de cicatrização, iniciado pelo processo inflamatório localizado, seguido pelo processo de remodelagem. Nesta direção novos materiais têm sido propostos tais como polipropileno recoberto com poliglactina (Klinge et al., 1999), matrizes de colágeno semeadas com mioblástos (van Wachem et al., 1999), politetrafluoroetileno poroso (Bellón et al., 1999), malhas impregnadas com gelatina fluorapassivada (Soares et al., 1996) e malhas biodegradáveis de ácido poliglicólico (Andrew et al., 1998). Tecidos naturais como o pericárdio bovino também tem sido proposto como material para a reconstrução de parede abdominal (Doherty et al., 1995).

Objetivos

Este trabalho descreve o desenvolvimento, a caracterização e o estudo do comportamento biológico de duas malhas poliméricas derivadas do polipropileno e modificadas por recobrimento com colágeno polianiônico ou na forma de uma dupla camada com poli(cloreto de vinila) (PVC), como biomateriais de reconstrução da parede abdominal.

As justificativas para estas associações estão baseadas em: a – embora o colágeno polianiônico seja um poliânion a pH fisiológico (Goissis et al., 1998), é caracterizado por um alto grau de biocompatibilidade (Goissis et al., 1999), devendo pós-implante, resultar em processos inflamatórios menos intensos quando comparado com as malhas de polipropileno utilizadas para esta finalidade; b – embora caracterizado pela sua menor resistência mecânica quando comparado à malha de polipropileno, o PVC apresenta uma baixa capacidade para adsorver proteínas na sua superfície, um fenômeno importante envolvido no processo da adesão celular.

Os objetivos deste trabalho foram, portanto: a - desenvolver malhas de polipropileno associado a uma maior biocompatibilidade, visando também menor aderência das alças intestinais, sem perda das propriedades mecânicas, que serão conferidas pelo polipropileno; b – desenvolvimento de materiais de baixo custo para reparos de curta duração (implantes temporários) à base de PVC apenas, principalmente em cirurgias pediátricas, onde as propriedades mecânicas não são tão restritivas, em comparação aos implantes permanentes. Neste trabalho, os materiais utilizados foram caracterizados por eletroforese em gel de poli(acrilamida)-SDS, espectroscopia no infravermelho, calorimetria exploratória diferencial de varredura, microscopia eletrônica de varredura e por implantação dos materiais na cavidade abdominal de carneiros, seguido por análise morfológica e histopatológica.

Experimental

Preparação do colágeno polianiônico.

O gel de colágeno foi obtido por tratamento de tendão bovino a 20 °C com uma solução alcalina contendo dimetilsulfóxido a 6% (m/m) e sais de metais alcalino e alcalinos terrosos (Goissis et al., 1999). Após a remoção dos sais residuais, o material foi extraído com uma solução de ácido acético a pH 3,5, e a concentração da proteína ajustada para 0,7% (m/m).

Preparação dos derivados de polipropileno

Com colágeno polianiônico: este material foi preparado pela fixação da tela de Marlex® (Bard® Marlex® Mesh, Vascular Division System) na base de uma forma de acrílico, seguido da adição do gel de colágeno a 0,7% (m/m). Após o conjunto ter sido submetido ao vácuo, foi deixado secar lentamente em capela de fluxo laminar e posteriormente embalado para esterilização com óxido de etileno.

Com Poli(cloreto de vinila): neste caso, o sanduíche polipropileno: PVC foi obtido por soldagem dos polímeros em uma temperatura próxima, mas inferior ao ponto de fusão do polipropileno, a qual foi determinada previamente por DSC. Após embalagem, o material foi esterilizado com óxido de etileno.

Caracterização dos materiais

Massa molecular: foi determinada por eletroforese em gel de poli(acrilamida)-SDS (Laemmli, 1970), com gel de 5% para empacotamento e 7% de separação. A razão a_1/a_2 foi por avaliação densitométrica do gel, após serem corados por Coomassie Blue. O padrão de proteínas utilizado foi da Sigma contendo uma mistura de: Miosina (205000 g/mol), b-galactosidase (117000 g/mol), Fosforilase b (97400 g/mol), Albumina de Soro Bovino (66000 g/mol), Ovalbumina (45000 g/mol), Anidrase Carbônica (29000 g/mol).

Espectroscopia de infravermelho (IV): os espectros de absorção foram obtidos em um espectrofotômetro NICOLET 5SXC FT-IR, de 400 a 4000 cm^{-1} , com resolução de 2 cm^{-1} , de membranas preparadas formas de acrílico de géis de TB a partir de gel colágeno de TB a 0,16% (m/m). Membranas típicas apresentaram uma massa de 0,4 mg/cm^2 . Antes da obtenção dos espectros, as membranas foram secas sob vácuo por 72h na presença de KOH. A razão 1235/1450 foi determinada como uma medida da integridade da tripla hélice do colágeno. A banda em 1235 cm^{-1} corresponde às vibrações da amida III (estiramento C-N e vibração N-H) que são sensíveis à alterações na estrutura secundária do colágeno (tripla hélice), enquanto a banda em 1450 cm^{-1} corresponde às vibrações dos anéis pirrolidínico de prolina e hidroxiprolina, que diferentemente da banda em 1235 cm^{-1} , tem sua intensidade independente das variações estruturais do colágeno.

Calorimetria exploratória diferencial (DSC): estas determinações foram realizadas em cadinhos de alumínio com amostras de aproximadamente 10 mg, em um equipamento da TA Instruments, Modelo 2920. Um padrão de índio foi usado para calibração prévia

da temperatura e fluxo de calor. A taxa de aquecimento foi de 5°C/min. no intervalo de temperatura entre 20 a 300 °C, sob atmosfera de N₂ (60 mL/min).

Microscopia eletrônica de varredura (MEV): as fotomicrografias dos materiais desenvolvidos a partir do polipropileno foram obtidas em um microscópio ZEISS modelo DSM 960, operando com feixes de elétrons primários de 20 keV. Todas as amostras foram recobertas com uma camada de ouro (20 nm).

Implantes: foram utilizados 6 carneiros machos, adultos jovens, clinicamente sadios, pesando entre 20 e 40 Kg nos quais foram implantados a tela de polipropileno, polipropileno:PVC e polipropileno: colágeno polianiônico (6 implantes/material). Após 6 horas em jejum, os carneiros foram submetidos à anestesia geral, com intubação oro-traqueal e ventilação mecânica, com uso das seguintes drogas anestésicas: Etomidato, Ketalar, Tionembutal e Halotano, coadjuvadas por Decadron e Bicarbonato de sódio. Paralelamente, foram administrados endovenosamente, 1 g de cefalotina sódica (Keflin) como antibioprofilaxia. Procedimento cirúrgico: foram feitas duas incisões paramedianas em cada carneiro, e os materiais fixados com pontos separados de nylon na aponeurose posterior, junto ao peritônio parietal. A parede foi fechada com sutura contínua, com fios de linho e a pele, após ter sido suturada com pontos separados de linho, foi tratada com solução antisséptica. Nas reoperações, após 1, 9 e 18 semanas, além da avaliação da aderência das alças sobre implantes, foram removidos de todos os animais, fragmentos de 3 cm com linha de sutura no centro, para avaliação histológica por microscopia de luz, em lâminas com 5m de espessura, coradas em Hematoxilina-Eosina, Tricrômico de Gomori e Von-Kossa. Este experimento foi realizado de acordo com "Princípios Éticos na Experimentação Animal elaborado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA)" e com a aprovação da Comissão de Ética de Experimentação Animal da Faculdade de Medicina e Enfermagem de São José do Rio Preto, SP.

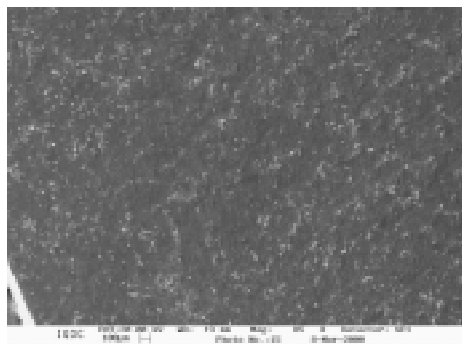
Resultados e Discussão

Caracterização dos materiais

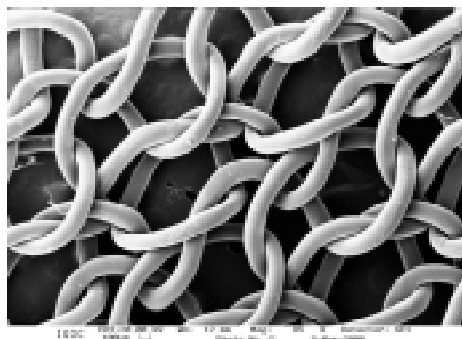
Eletroforese em gel poli(acrilamida)-SDS a 7%, corada com Coomassie Blue mostrou que o gel de colágeno obtido a partir do tendão bovino após 24 de hidrólise, foi caracterizado pela presença de duas bandas de maior intensidade, com massas moleculares de 98.000 Da e 104.000 Da, correspondendo respectivamente às

cadeias a_1 e a_2 , com uma relação a_1/a_2 de 1,9, comparada com aquela esperada de 2,0, para o colágeno tipo I. Foram detectadas também, bandas de intensidade menor em regiões correspondendo à cadeias do tipo cadeia b (duas cadeias a unidas) e componentes com massas moleculares inferiores a 100.000 Da, mas de baixa intensidade. A relação de absorvâncias no infravermelho para as bandas A_{1235}/A_{1450} determinadas para membranas de colágeno preparadas a partir de géis de TB a pH 3,5 foi de 1,07, sugerindo que a estrutura da tripla hélice do colágeno foi preservada (Silvester et al., 1989). Valores para materiais de colágeno desnaturado e gelatina são significativamente menores e próximos de 0,60 (Silvester et al., 1989).

O valor médio para a estabilidade térmica (Td) determinada em membranas reconstituídas a partir do gel de colágeno polianiônico foi 53,2 °C, confirmando que a estrutura secundária da proteína foi preservada no processo de extração. Colágeno desnaturado (ausência da estrutura secundária) não apresenta qualquer transição no intervalo de temperatura entre 20 e 100 °C (Flandin et al., 1984).



(a)

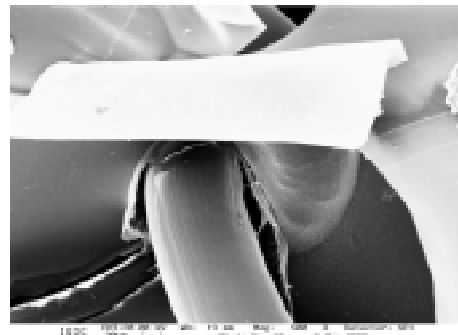


(b)

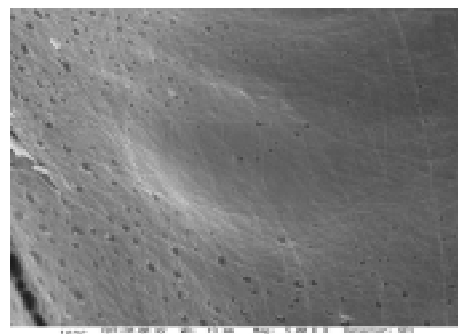
Figura 1. Fotomicrografia de microscopia eletrônica de varredura de: **(a)** face do poli(cloreto de vinila) da dupla camada polipropileno: Poli(cloreto de vinila); **(b)** polipropileno. **Figure 1.** Electron scanning microscopy photomicrograph of: **(a)** poly(vinyl chloride) surface from the double layer poly(vinyl chloride):polypropylene; **(b)** polypropylene.

As figuras 1a e 1b mostram as micrografias do polipropileno e polipropileno: PVC. A Figura 1a corresponde à face mais lisa do PVC utilizado, sendo aquela voltada para o interior da cavidade abdominal. Esta superfície foi caracterizada pela presença de irregularidades, que muito provavelmente estão associadas ao processo de fabricação. A outra face, embora não mostrada, foi caracterizada pela presença de saliências bastante irregulares, razão pela qual, a superfície mostrada na Figura 1a foi aquela exposta à cavidade abdominal. A Figura 1b é aquela do polipropileno grau médico utilizada neste trabalho.

As Figuras 2a e 2b mostram as micrografias de MEV do polipropileno recoberto com colágeno polianiônico com aumentos de 500x e 5000x respectivamente. O material consiste basicamente, de uma fase protéica depositada na forma de uma película (Figura 2b) sobre a malha de polipropileno, resultando em um material na forma de um sanduíche colágeno polianiônico : polipropileno : colágeno polianiônico (outra face não é mostrada), como sugerido pela Figura 2a. Portanto, a fase efetivamente de-



(a)



(b)

Figura 2. Fotomicrografias de microscopia eletrônica de varredura de polipropileno: colágeno polianiônico. **(a)** 500 vezes de aumento; **(b)** 5000 vezes de aumento. **Figure 2.** Electron scanning microscopy photomicrograph of polypropylene : polyanionic collagen. **(a)** 500x; **(b)** 5000x.

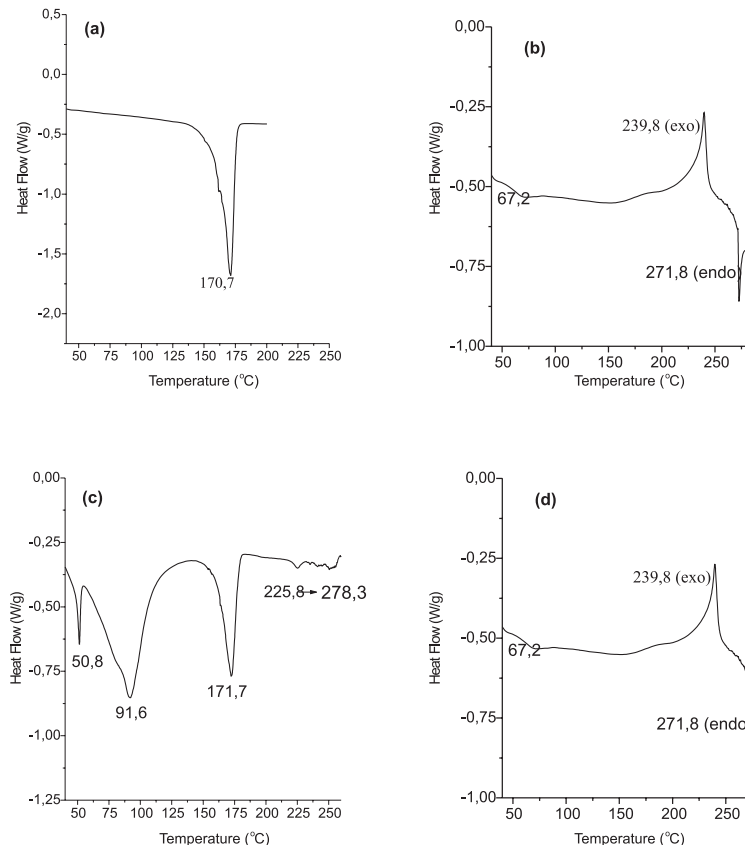


Figura 3. Calorimetria exploratória diferencial: **(a)** polipropileno; **(b)** poli(cloreto de vinila); **(c)** Polipropileno: colágeno polianiónico; **(d)** Dupla camada polipropileno : poli(cloreto de vinila). **Figure 3.** Differential scanning calorimetry: **(a)** polypropylene; **(b)** poly(vinyl chloride) polypropylene; **(c)** polypropylene: polyanionic collagen; **(d)** poly(vinyl chloride): polypropylene double layer.

verá ficar em contato com o tecido, independente da face do implante, é a película de colágeno. Por outro lado, como sugerido na Figura 2a, praticamente não existe aderência do colágeno sobre as fibras de polipropileno, provavelmente devido à natureza antagônica dos polímeros. Enquanto o polipropileno é tipicamente hidrofóbico, o colágeno polianiónico tem características tipicamente hidrofílicas. Aparentemente, os únicos pontos de aderência entre os dois materiais estão localizados nas regiões de entrelaçamento das fibras de polipropileno (Figura 2a).

Nas avaliações feitas por DSC, como o esperado, o polipropileno (Figura 3a) foi caracterizado pela presença de apenas uma transição térmica em 171,7 °C, correspondendo à temperatura de fusão (transição endo). O PVC (Figura 3b) apresentou uma transição 67,1°C (transição vítrea, endo) e duas outras acima de 200°C, uma exo em 239,8 e uma endo em 271,8 °C, correspondentes a transições de decomposição, que são características para este polímero. Em relação à transição vítrea do PVC, na ausência de

plastificantes ela ocorre ao redor de 88,0 °C. Entretanto na presença de plastificantes esta transição ocorre sempre em temperaturas significativamente menores.

Em relação à associação polipropileno : colágeno polianiónico (Figura 3c), a transição observada em 50,8 °C é aquela esperada para o colágeno polianiónico (Goissis et al., 1999) e aquela em 91,9 °C é devido à água associada ao revestimento de colágeno. A transição em 173,1 corresponde ao ponto de fusão de polipropileno. No caso do sanduíche polipropileno: PVC (Figura 3d), as transições observadas em 168,2 (exo) e 236,6 (endo) e 265,4 são referentes à temperatura de fusão do polipropileno e de decomposição do PVC respectivamente. Não foi observada no sanduíche, a temperatura de transição vítrea do PVC.

Resposta biológica dos implantes

Avaliação morfológica: nas reoperações após 1, 9 e 18 semanas, de modo geral, não foram observada deiscências de sutura ou infecção em nenhum dos animais. Apenas em um dos animais reoperados após 9

semanas e com implante de polipropileno foi detectada a presença de seroma, o que não acarretou maiores conseqüências clínicas. Em relação a aderência das alças intestinais nos materiais implantados, as observações que se seguem foram realizadas de acordo com a classificação previamente descrita por Jenkinsons.

a. Implante de polipropileno: nos animais que receberam este implante, a aderência após 1 e 9 semanas foram mínimas e puderam ser liberada por dissecação romba suave (classificação 1); após 18 semanas, entretanto, a aderência já era moderada e só pode ser liberada por dissecação romba agressiva (classificação 2).

b. Implantes de polipropileno: PVC: nenhuma aderência foi observada após 1 ou 9 semanas (classificação 0); após 18 semanas a aderência das alças intestinais foi mínima (Classificação 1).

Estes resultados sugerem que superfícies de PVC, principalmente em relação as aplicações de curta permanência, são menos propensos a adesão das alças quando comparados com o polipropileno.

A mesmas avaliações para os implantes de polipropileno: colágeno polianiónico mostraram que os re-

sultados foram similares àqueles descritos acima para o polipropileno: PVC.

Avaliação histopatológica: estes resultados serão discutidos detalhadamente apenas para o caso dos implantes de polipropileno e polipropileno: colágeno polianiónico (Tabela 1), em virtude da reação tecidual anômala observada neste caso. Os implantes de polipropileno: PVC apresentaram um perfil de resposta inflamatória similar àquele descrito a seguir para os implantes de polipropileno. (Tabela 1, Figura 4).

Fibrose peri-implante: Para o caso dos implantes de polipropileno (Figura 4a), independentemente do tempo da reoperação, observou-se fibrose moderada (3+/5) envolvendo o material implantado em todas as amostra analisadas. Para os implante polipropileno: colágeno polianiónico (Figura 4b), este processo ocorreu de modo mais acentuado (4+/5).

Processo inflamatório peri-implante: Para os implantes de polipropileno (Figura 4a), embora não fosse observado qualquer infiltrado inflamatório significativo junto ao material implantado após uma semana, o grau de inflamação passou de ausente, para

Tabela 1. Resultados histopatológicos ^a para polipropileno e polipropileno: colágeno polianiónico explantados da parede abdominal de ovelhas. **Table 1.** Histopathological results^a from polypropylene (PLP) and polypropylene: polyanionic collagen (PLP:PAC) explants from the abdominal wall of sheeps.

Descritivo da Patologia ^b Tissue response	Explantos (Tempo em Semanas) Explants (Time in weeks)					
	PLP			PLP:PAC		
	1	9	18	1	9	18
I. Pele ulcerada / <i>Ulcerated skin</i>	(-)	(-)	3+/5	(-)	(-)	(-)
II. Tec. granulação / <i>Granulation tissue</i>	(-)	(-)	3+/5	(-)	(-)	(-)
III. Fibrose / <i>Fibrosis</i>	3+/5	3+/5	3+/5	4+/5	4+/5	4+/5
IV. Inflam. / <i>Inflamm (PI)</i>	(-)	2+/5	4+/5	3+/5	1+/5	1+/5
IV.1. Histiócitos / <i>Histiocytes</i>	(-)	1+/5	2+/5	2+/5	1+/5	1+/5
IV.2. CGM (CE)	(-)	1+/5	2+/5	2+/5	1+/5	1+/5
V. Tecido osteóide / <i>Osteoid tissue</i>	(-)	(-)	1+/5 (PI)	(-)	(-)	(-)
VI. Osteoblastos / <i>Osteoblasts</i>	(-)	(-)	1+/5	(-)	(-)	1+/5
VII. Osteoclastos / <i>Osteoclasts</i>	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	1+/5
VIII. Osso primário / <i>Primary bone</i>	(-)	(-)	(-)	3+/5	5+/5	2+/5
VIII.1. Localização / <i>Localization</i>	(-)	(-)	(-)	PI	ETI	PI
IX. Sais de cálcio / <i>Calcification</i>	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

a - Avaliação feita com base na escala 1+/5 (resposta discreta) a 5+/5 (resposta intensa); **b** - CGM(CE): Células gigantes multinucleadas (reação do tipo corpo estranho); PI: Peri-implante; ETI: Envolvendo todo o implante (-) ausente. **a** - Evaluation after the established scale: 1+/5 (moderate response) to 5+/5 (intense response); **b** - CGM(CE): multinucleated giant cells (foreign body); PI: peri-implant; ETI: surrounding the implant; (-) absent.

moderada intensidade após 9 semanas (2+/5) e para intensa após 18 semanas (4+/5). Este processo inflamatório do tipo crônico foi caracterizado pela presença predominante de células do tipo histiócitos e de células gigantes multinucleadas (reação crônica granulomatosa do tipo corpo estranho). Para o caso do polipropileno : colágeno polianiónico (Figura 4b), como o previsto nos objetivos deste trabalho, a reação foi inversa e o processo inflamatório teve sua intensidade reduzida após 1, 9 e 18 semanas para 3+/5, 1+/5 e 1+/5 respectivamente (inflamações moderada e discreta) (Tabela 1). O perfil qualitativo da resposta celular do processo inflamatório foi similar àquele descrito para implantes de polipropileno.

Metaplasia óssea ou ossificação do tipo primária: Foi neste aspecto que a resposta observada para

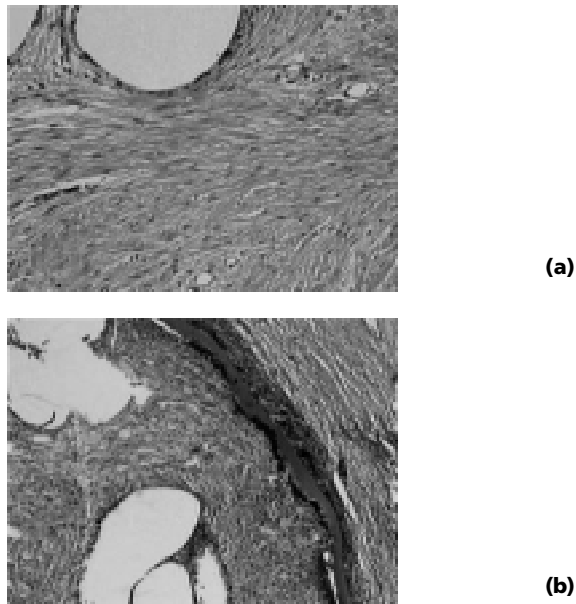


Figura 4. Micrografias da resposta tissular de implantes de polipropileno e polipropileno: colágeno polianiónico após 18 semanas de implante: **(a)** Polipropileno com fibrose intensa ao redor do implante (centro, acima), Tricrômico de Gomori, 40x; **(b)** Polipropileno: colágeno polianiónico, mostrando a fibrose e osso novo formado (à direita). Hematoxilina: eosina, 40x.

Figure 4. Micrograph from the tissular reaction of polypropylene: polyanionic collagen implants after 18 weeks: **(a)** Intense fibrosis around polypropylene mesh (center, top), Gomori Trichromic, 40x; **(b)** Illustration of polypropylene : polyanionic collagen fibrosis (arrow) and bone formation (arrow) around the implant (right). Hematoxiline : eosine, 40x.

o polipropileno : colágeno polianiónico foi considerada anômala em relação às respostas teciduais típicas de tecidos a malhas de polipropileno implantado em situações similares. Não há registro na literatura de neoformação óssea induzida por implantes de polipropileno. Entretanto, para o caso do polipropileno: colágeno polianiónico, o processo de ossificação (osso esponjoso imaturo) foi observado e, dentro do período estudado (1 a 18 semanas), evoluiu de moderado (3+/5) a acentuado (5+/5). Após 18 semanas, o tecido ósseo neo-formado apresentou-se na forma de uma barreira histológica circundando as fibras do polipropileno, como que as isolando do restante do tecido (Figura 5a). Pode ser observado também que nesta estrutura óssea, a atividade osteoblástica mostrou-se proeminente (Figura 5b).

Embora do ponto de vista da correção de defeitos da parede abdominal, a formação anômala de tecido

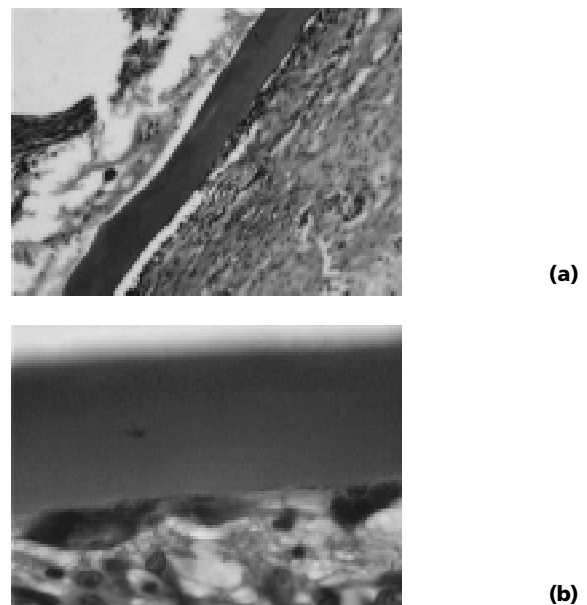


Figure 5. Micrografias da resposta tissular de implantes de polipropileno recobertos com colágeno polianiónico após 18 semanas de implante. **(a)** Tecido ósseo imaturo ao centro, próximo da fibra de polipropileno (esquerda). Hematoxilina: Eosina, 100x; **(b)** Ilustração da presença de osteoblastos na superfície do tecido ósseo em formação, Hematoxilina: Eosina, 400x.

Figure 5. Micrograph from the tissular reaction of polypropylene : polyanionic collagen implants after 18 weeks: **(a)** Immature bone tissue (center, left) close to polypropylene mesh. Hematoxiline: eosine, 100x; **(b)** Illustration of an osteoblast at the surface of the newly formed bone tissue (arrow). Hematoxiline: eosine, 400x.

ósseo consiste em uma contra-indicação de uso, por si só é interessante do ponto de vista de biomateriais. A neoformação óssea sugere a presença no colágeno polianiônico utilizado de propriedades de ósteo-indutoras. É sabido que fenômenos elétricos estão diretamente associados aos processos de regeneração ou reconstrução dos tecidos ósseo e nervoso envolvendo entre outras a piezoelectricidade. O colágeno utilizado neste trabalho para o recobrimento do polipropileno, diferentemente do colágeno natural, além de ser biocompatível, apresenta propriedades piro e piezoelétricas muito superiores (Goissis et al., 1998), o que poderia explicar a neoformação óssea ao redor dos implantes, estimulada por correntes elétricas geradas por simples ação mecânica sobre o implante.

Conclusões

Os resultados acima mostraram que: (i) os implante polipropileno : PVC foram mais biocompatíveis e menos susceptíveis à adesão das alças intestinais, sugerindo sua utilização em potencial como materiais de implante permanente na reconstrução da parede abdominal; (ii) o PVC isoladamente, pelas mesmas razões acima, e principalmente pela ausência de adesão após 9 semanas, pode constituir-se em material alternativo para implantes temporários e de baixo custo, principalmente na cirurgia pediátrica; (iii) embora a neoformação óssea observada com os implantes de polipropileno:colágeno polianiônico não recomendem seu uso como o proposto inicialmente neste trabalho, sua presença constitui-se em uma indicação da presença no colágeno utilizado, de propriedades ósseo-indutoras.

Agradecimentos

Ao Prof. J. V. de Paiva Neto, responsável pelo biotério da FAMERP, pelo apoio dado a este trabalho. A.E. Biazin, G.D Broch e D.Z Netto pelo apoio técnico e à FAPESP pelo apoio financeiro (Proc. 97/04558). S.R.O. Raymundo, K.M.K Hussain e H. Chaves são alunos de Pós-Grad. da FAMERP. D.R Parreira foi bolsista de IC-FAPESP e, atualmente é aluno de Pós-Grad. do curso Inter-Unid. em Bioengenharia - USP - São Carlos.

Referências

Amid, P.K., Shulman, A.G., Lishtenstein, I.L., Hakakha, M. (1994). "Biomaterials for abdominal wall hernia surgery and principles of their applications". *Langenbecks Archive Chirurgie*. v. 379, p. 168-171.

Amid, P.K., Shulman, A.G., Lishtenstein, I.L., Hakakha, M. (1995). "Biomaterials and hernia surgery. Rationale

for using them". *Revista Espanica de Enfermagen*. v. 87, p. 582 -586.

Andrew, T.G. (1998). "The Utility of Polyglycolic Acid Mesh for Abdominal Access in Patients With Necrotizing Pancreatitis". *Journal of the American College of Surgeons*, v. 186, p.313-3180.

Athanasiou, K.A., Niederauer, G.G., Mauli A.C. (1996). "Sterilization, toxicity, biocompatibility and clinical applications of polylactic acid/polyglycolic acid copolymers". *Biomaterials*, v. 17, p. 93-102.

Bellon, J.M., Bujan, J., Contreras, L.A., Hernando, A. (1995). "Integration of biomaterials implanted into abdominal wall: process of scar formation and macrophage response". *Biomaterials*, v. 16, p. 381-387.

Bellón, J.M., Contreras, L.A., Buján, J., Carrera, S.M.A. (1996). "Experimental assay of a Dual Mesh® polytetrafluoroethylene prosthesis (non-porous on one side) in the repair of abdominal wall defects". *Biomaterials*, v. 17, p. 2367-2372.

Bellon, J.M., Contreras, L.A., Sabater, C., Bujan, J. (1997). "Pathologic and clinical aspects of repair of large incisional hernias after implant of a polytetrafluoroethylene prosthesis". *World Journal of Surgery*, v. 21, p. 402-406.

Flandin, F., Buevant, C., Herbage, C. et al. (1984). "A differential scanning calorimetry analysis of the age-related changes in the thermal stability of rat skin collagen". *Biochimica Biophysica Acta*, v. 791, p. 205-213.

Goissis, G., Piccirilli, A., Goes, J.C., Plepis, A.M.G., Das-Gupta, D.K. (1998). "Anionic collagen: Polymer composites with improved dielectric and rheological properties". *Artificial Organs*, v.22, p. 215-221.

Goissis, G., Marcantônio Jr., E., Marcantônio, R.A.C., Lia, R.C.C., Cancian, D.C.J., Carvalho, W.M. (1999). "Biocompatibility studies of anionic collagen membranes with different degree of glutaraldehyde cross-linking". *Biomaterials*, v. 20, p. 27-34.

Klinge, U., Klosterhalfen, B., Müller, M., Anurov, M., Öttinger, A., Schumpelick, V. (1999). "Influence of polyglactin-coating on functional and morphological parameters of polypropylene-mesh modifications for abdominal wall repair". *Biomaterials*, v. 20, p. 613-623.

Klinge, U., Klosterhalfen, B. (1996). "Changes in abdominal wall mechanics after mesh implantation. Experimental changes in mesh stability". *Langenbecks Archive Chirurgie*. v. 381, p. 323-332.

Laemml, U.K. (1970). "Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4". *Nature*, v. 227, p. 680-684.

Langer, I., Herzog, U., Schupisser, J.P., Ackermann, C. Tondelli, P. (1996). "Preperitoneal prosthesis implantation in surgical management of recurrent inguinal hernia. Retrospective evaluation of our results 1989-1994". *Chirurgie*, v. 67, p. 394-402.

Lichtenstein, I.L., Shulman, A.G., Amid, P.K. (1993). "The cause, prevention, and treatment of recurrent groin hernia". *Surgical Clinic of North America*. v. 73, p. 529-544

Matapurkar, B.G., Gupta, A.K., Agarwal, A.K. (1991). "A new technique of "Marlex-peritoneal sandwich" in the repair of large incisional hernias". *World Journal of Surgery*. v. 15, p. 768-770.

- Mutter, D., Aprahamian, M., Damge, C., Sonzini, P., Marescaux, J. (1996). "Biomaterial supports for colonic wall defect healing: An experimental study in the rat". *Biomaterials*, v. 17, p. 1411-1415.
- Santillan, D.P., Jasso, V.R., Sotres, V.A., Olmos, R., Arreola, J.L., Garcia, D., Vanda, B., Gaxiola, M. (1995). "Repair of thoracoabdominal wall defects in dogs using a bovine pericardium bioprosthesis". *Revista de Investigaciones Clinicas*, v. 47, p. 439-446.
- Schumpelick, V., Conze, J., Klinge, U. (1996). "Preperitoneal mesh-plasty in incisional hernia repair, a comparative retrospective study of 272 operated incisional hernias". *Chirurgie*, v. 67, p. 1028-1035.
- Shulman, A.G., Amid, P.K., Lishtenstein, I.L. (1992). "The safety of mesh repair for primary inguinal hernias: results of 3019 operations from five diverse surgical sources". *American Surgery*, v. 58, p. 255-257.
- Silvester, M.T., Yannas, I.V., Salzman, E.P., Forbes, M.J. (1989). "Collagen banded fibril structure and the collagen platelet reaction". *Thrombosis Research*, v. 55, p.135-148.
- Soares, B.M., King, M.W., Marois, Y., Guidoin, R.G., Laroche, G., Charara, J., Girard, J.F. (1996). "In vitro characterization of a fluoropassivated gelatin-impregnated polyester mesh for hernia repair". *Journal of Biomedical Material Research*, v. 32, p. 259-270.
- van Wachem, P.B., Brouwer, L.A., van Luyn, M.J.A. (1999). "Absence of muscle regeneration after implantation of a collagen matrix seeded with myoblasts". *Biomaterials*, v. 20, p. 419-426.